

Artículo de investigación

ESTUDIO FITOQUÍMICO DE HOJAS Y FLORES DE *Smallanthus pyramidalis* (Triana) H. Rob. (ARBOLOCO) Y SU USO EN LA RECUPERACIÓN DE LOS HUMEDALES DE BOGOTÁ**Phytochemical research of leaves and flowers of *Smallanthus pyramidalis* (Triana) H. Rob. (Arboloco) and its use in the recovery of wetlands in Bogota**

Palabras clave: arboloco, humedales, metabolitos secundarios.

Key words: arboloco, wetlands, secondary metabolites.

Antonio J. Guzmán Avendaño¹

Diana A. Barrera Adame²

RESUMEN

Esta investigación se enfocó en el estudio fitoquímico de la especie *Smallanthus pyramidalis* (Triana) H. Rob., a fin de identificar los metabolitos secundarios presentes en las flores y hojas; debido a la importancia que esta especie presenta en el desarrollo sostenible de los humedales de la sabana de Bogotá y su posible aplicación para el uso y conservación de estos ecosistemas. Para esto, se realizaron pruebas químicas preliminares, fraccionamientos mediante el uso de técnicas convencionales, identificación de propiedades físicas y químicas y análisis estructural mediante el uso de técnicas espectroscópicas y espectrométricas como UV, ¹H-RMN, ¹³C-RMN y GC-EM. Se identificaron compuestos de tipo alcano, esteroide, terpenoide y flavonoide principalmente, y se discute sobre el rol que estos tienen en la especie vegetal y en el ecosistema.

ABSTRACT

This research focused on the phytochemical characterization of the species *Smallanthus pyramidalis* (Triana) H. Rob. in order to identify the secondary metabolites of flowers and leaves. This is due to the importance these trees on the

sustainable development of the wetlands in the Sabana de Bogotá, and its possible application as a promising species in the use and conservation of these ecosystems. We performed preliminary chemical tests, fractionation using conventional techniques, identification of physical and chemical properties, and structural analysis using spectroscopic and spectrometric techniques, such as UV, ¹H-RMN, ¹³C-RMN and GC-MS. We identified alkane-type compounds, steroids, terpenoids and flavonoids mainly, and their role in the plant and the ecosystem.

INTRODUCCIÓN

La Sabana de Bogotá alberga una gran variedad de cuencas hídricas de importancia e interés ambiental, farmacológico, industrial, agrícola y recreativo (Acueducto de Bogotá & Conservación Internacional Colombia, 2003), que son el punto de partida de investigaciones científicas y tecnológicas en pro de generar un desarrollo sostenible para aprovechar integralmente la totalidad de sus recursos. En la actualidad, los humedales de Bogotá se encuentran amenazados por la intervención antrópica ocasionada por rellenos, dragados, drenajes, contaminación, deforestación

¹ Universidad Distrital Francisco José de Caldas. Facultad del Medio Ambiente y Recursos Naturales. ajguzmana@udistrital.edu.co. Autor para correspondencia

² Universidad Distrital Francisco José de Caldas. diasbaad@gmail.com.

e invasión de terrenos, aspectos que alteran las características y las propiedades de estos sitios (Van der Hammen *et al.* 2008). En busca de recuperar las fuentes hídricas más importantes de la sabana de Bogotá, la Administración Distrital, la Secretaría Distrital de Ambiente, el DAMA, la Empresa de Acueducto de Bogotá EAAB y la Red de Humedales de la Sabana de Bogotá han emprendido una serie de proyectos que pretenden fomentar el estudio y conservación de las especies presentes en estos espacios (Van der Hammen *et al.* 2008).

Estos proyectos han arrojado información acerca de la presencia de especies vegetales, en su mayor parte, pertenecientes a la familia Asteraceae (Acueducto de Bogotá & Conservación Internacional Colombia, 2003), entre ellas *S. pyramidalis* conocida popularmente como arboloco. Especies de este género han recibido especial atención en Sur América, debido a su importancia económica y cultural. Ejemplo de esto es *Smallanthus sonchifolius* que es utilizada para la elaboración de jugos, dulces, encurtidos y té (Vignale & Gurni 2005).

Smallanthus pyramidalis es un árbol común en la Sabana de Bogotá, se encuentra espontáneamente en varios lugares; se cree que los indígenas lo cultivaban para regularizar el agua de sus cultivos, pues lo sembraban alrededor de las huertas y, en tiempos de sequía, permanecían los terrenos húmedos (Zuluaga 1994). Se caracteriza por ser erecto de 3 a 6 m de alto, fuerte, tallos cilíndricos, huecos, con nudos y entrenudos, de ramas extendidas, densamente pubescentes, las cuales se insertan desde la parte media superior del tallo formando una copa piramidal. Hojas grandes, de color verde claro, opuestas, pecioladas, ampliamente ovadas o romboideo, ovadas, acuminadas en el ápice y redondeadas en la base. Inflorescencia en largas panículas terminales, cabezuelas en discos de unos 10 mm de ancho y pediculadas. Contienen numerosas flores amarillas (García 1992).

A pesar de que *S. pyramidalis* es una especie bien conocida, en cuanto a su morfología y distribución,

poco se conoce la composición de metabolitos secundarios en hojas y flores; metabolitos que, aunque no son esenciales para la supervivencia, están involucrados en una multitud de interacciones ecológicas, entre ellas, las interacciones planta-planta, planta-microorganismo, planta-animal y planta-insecto (Palacios *et al.* 2004). Dichos metabolitos secundarios han permitido la clasificación quimiotaxonómica de otras especies, ya que relacionan la parte química con la morfología vegetal; esto permite generar patrones de relación más estrechos entre las diferentes especies (Isaza *et al.* 2007).

Así, el objetivo de este manuscrito comprendió el análisis químico de los metabolitos secundarios del arboloco. Para tal fin, se realizó el aislamiento de los compuestos mayoritarios presentes en el extracto total de las hojas y flores de *S. pyramidalis*, utilizando técnicas de fraccionamiento por polaridad creciente y técnicas cromatográficas convencionales, identificación de propiedades físicas y químicas de los compuestos aislados y determinación estructural, por medio de técnicas espectroscópicas y espectrométricas como infrarrojo raman (IR), resonancia magnética nuclear (RMN) y espectrométrica de masas (EM).

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se desarrolló en cuatro fases, desde la recolección del material vegetal hasta la elucidación completa de la estructura que presentan los metabolitos secundarios aislados, las cuales se describen a continuación.

FASE I. ANÁLISIS FITOQUÍMICO PRELIMINAR

Las muestras de hojas y flores de *S. pyramidalis* se colectaron en los humedales Juan Amarillo, La Conejera, Córdoba y Santa María del Lago, en Bogotá, Colombia, entre los meses de enero y abril del 2008. Una muestra testigo por humedal fue llevada al Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Colombia para su identificación y clasificación taxonómica (COL520318).

La muestra para la extracción se secó en horno de convección en el Laboratorio de Productos Naturales Vegetales de la Universidad Distrital Francisco José de Caldas, se trituró en molino mecánico, con posterior maceración en etanol y realización del análisis fitoquímico preliminar, el cual se elaboró bajo protocolo modificado de Sanabria (1983).

FASE II. OBTENCIÓN DE EXTRACTOS Y FRACCIONES

Los procedimientos realizados se hicieron por separado en hojas y flores. En primer lugar, se realizó una trituración de 1259 g de hojas y 597 g de flores secas por separado, las cuales se sometieron a maceración en etanol, a temperatura ambiente con agitación constante hasta agotamiento del material vegetal con filtraciones sucesivas, obteniendo el extracto etanólico total de 310.3 g para hojas y de 82.06 g para flores, que fueron concentrados a presión reducida. Adicionalmente, luego de ser sometidas a extracción con etanol, las hojas se llevaron nuevamente a maceración con diclorometano, bajo las mismas condiciones anteriormente descritas. En esta extracción se obtuvieron 3.1 g de extracto total.

Luego de la obtención de extractos, se realizó un fraccionamiento sólido-líquido de los extractos etanólicos, se introdujo la muestra seca en un equipo Soxhlet, se utilizaron solventes de polaridad creciente: éter de petróleo, diclorometano, acetato de etilo y etanol, para obtener de esta manera cuatro fracciones para hojas y cuatro fracciones para flores.

FASE III. SEPARACIÓN Y PURIFICACIÓN DE METABOLITOS MAYORITARIOS

Las fracciones de éter de petróleo y diclorometano se fraccionaron por cromatografía en columna (CC) sobre sílica gel usando como fases móviles: éter de petróleo, diclorometano, acetato de etilo y etanol. También se emplearon mezclas de solventes según las características de las fracciones,

todas ellas monitoreadas por cromatografía en capa delgada (CCD) y pruebas fitoquímicas preliminares. A los metabolitos aislados se le realizaron pruebas físicas y químicas para identificar sus propiedades.

FASE IV. ELUCIDACIÓN ESTRUCTURAL

Luego de la separación, purificación y caracterización de los metabolitos secundarios, se procedió a utilizar técnicas espectroscópicas como UV en un equipo Perkin Elmer Lambda 10, en el Laboratorio de Instrumentación 2 de la Universidad Distrital Francisco José de Caldas; RMN en un equipo Bruker 400 MHz en el laboratorio de Resonancia Magnética Nuclear de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá y acopladas como CG-EM en un equipo de gases Agilent 6850 serie II, acoplado a un detector de masas Agilent 5975B VL MSD con una columna HP-1 Agilent 30m x 0,32mm x 1mm. Este se ubica en el laboratorio de espectrometría de masas de la Pontificia Universidad Javeriana, con un tiempo de corrida de 20 min, temperatura de inyector de 100°C, temperatura inicial de columna de 25°C con una rampa de 10°C/2min-hasta 285°C, equipo que posee como biblioteca interna Wiley 7.0, para llegar a elucidación estructural de los metabolitos secundarios purificados.

RESULTADOS

La caracterización fitoquímica preliminar en hojas y flores de *S. pyramidalis* permitió determinar la presencia principalmente de los grupos de metabolitos de tipo carotenoide, triterpeno, tanino, flavonoide, sesquiterpenlactona, glicósido y cumarinas; encontrando esteroides solamente en las flores.

HOJAS

Fracción etérea

A la fracción de éter de petróleo se le realizó una cromatografía en columna (Sílca gel 60H EdP (éter de petróleo)- EtOH (etanol). En la fracción

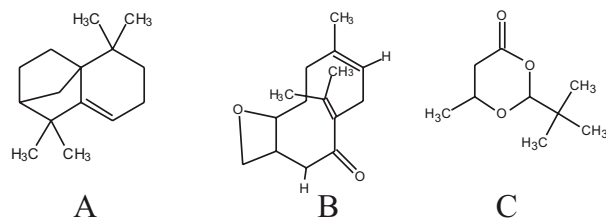


Figura 1. Compuestos aislados e identificados en las hojas *Smallanthus pyramidalis*. A. Isolongifoleno. B. 7, 11-Epoxigermacrona. C. 2-(1,1-dimetiletil)-6-metil-1,3-Dioxan-4-ona

diclorometano-acetato de etilo 8:2, luego de la recuperación del solvente y de la recrystalización con acetona, se obtuvo una serie de cristales blancos de aspecto brillante con forma de agujas. A este sólido cristalizado se le determinó un punto de fusión: $78 \pm 3^\circ\text{C}$ y un R_f de 0,49 (Silica gel 60G y AcOEt “Acetato de etilo”: CHCl_3 “Cloroformo” 1:19). Sumado a esto, se le realizaron pruebas de reconocimiento, lo que arrojó resultados positivos para las pruebas de Liebermann-Burchard e hidroxamato férrico –para reconocimiento de esteroides o triterpenos y cumarinas respectivamente–. Dicho compuesto se denominó SPH1, que fue sometido a un análisis CG-EM, el cual mostró tres señales correspondientes a la presencia de: Isolongifoleno, 7, 11-Epoxigermacrona y 2-(1,1-dimetiletil)-6-metil-1,3-dioxan-4-ona (figura 1) con porcentajes de coincidencia superiores al 72%, según biblioteca interna del equipo.

Fracción diclorometano

Se realizó una cromatografía en columna (Silica gel 60H, EdP-EtOH). En la fracción diclorometano-acetato de etilo 9:1 se obtuvo una emulsión de aspecto café con cristales esféricos que no se lograron separar por los métodos convencionales. Esta suspensión presentó un punto de fusión de $82 \pm 3^\circ\text{C}$ y dos R_f de 0.63 y 0.72 (sílica gel acetona-cloroformo 1:19). La mezcla llamada SPH3 presentó prueba positiva para hidroxamato férrico y Shinoda (reconocimiento de cumarinas y flavonoides respectivamente). Posteriormente, se le realizó un análisis por CG-EM, que mostró siete señales correspondientes a: 7-terbutil-4-metil-5-

nitrobenzoxasola, ácido dehidro-cohumulínico, 4-dioxo-3-metil-6-isopropilpirimido [2,3-b]-[1,4] pirazina, 12,17-epoxi-13, 14, 15, 16,-tetranorlabd-8(17) eno, α , α , γ , γ , γ , γ , -hexametil-1,4-benceno-dipropanol, hexahidrodibenzo [ef, kl] heptaleno y 3-etil-4,4-dimetil-2-(2-metilpropenil) ciclohexen-2-ona. En la figura 2 se muestran los compuestos llamados 7-terbutil-4-metil-5-nitrobenzoxasola y ácido dehidro-cohumulínico, con porcentajes de coincidencia con la biblioteca interna superiores al 91%.

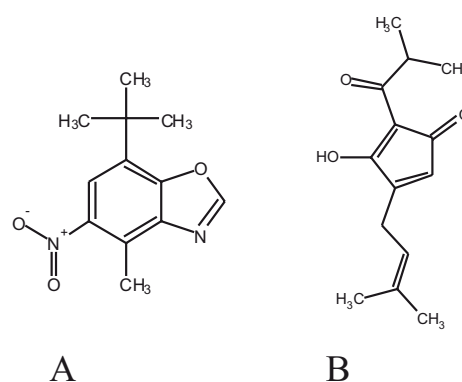


Figura 2. Compuestos obtenidos de SPH3 aislados de las hojas de *Smallanthus pyramidalis*. A. 7-terbutil-4-metil-5-nitrobenzoxasola B. ácido dehidro-cohumulínico

Extracto en diclorometano

Al extracto de diclorometano se le realizó una cromatografía en columna (silica gel 60H EdP- EtOH), en la fracción de éter de petróleo-diclorometano 3:7 se obtuvo una sustancia sólida de carácter viscoso y de color amarillo pálido con fluorescencia verde a luz UV de 366nm, denominada SPH2 con resultado positivo para la prueba de Liebermann-Burchard. Se realizó una cromatografía en capa fina, de lo cual se obtuvo un R_f de 0.53 (CHCl_3) y R_f de 0,41 (EdP- CHCl_3 2:8), punto de fusión: $74 \pm 2^\circ\text{C}$. Posterior a las pruebas desarrolladas a la sustancia SPH2, se realizó un análisis por CG-EM, en el que se observaron tres picos que hacen referencia a una mezcla de terpenos: 1,2,3,4-tetrahidro-1,6 dimetil-4-(1-metiletil)-(1s-cis)-naftaleno, α -muroleno y δ -Cadineno (Figura 3), todos ellos con porcentajes de coincidencia superiores al 95%.

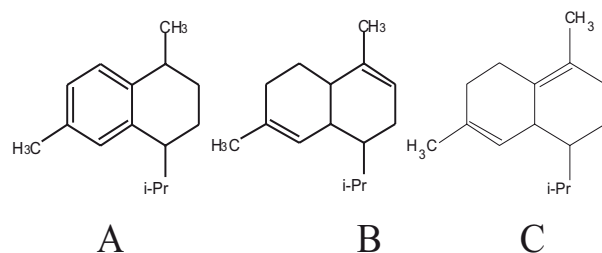


Figura 3. Compuestos aislados e identificados de las hojas de *Smallanthus pyramidalis*. A. 1, 2, 3,4-tetrahidro-1,6dimetil-4-(1-metiletil)-(1S-cis)-naftaleno B. alfa-muroleno C. Delta-Cadineno

En la fracción diclorometano-acetato de etilo 7:3 se separó una sustancia de color amarillo que se llevó a un proceso de recristalización por saturación de solvente. De este proceso se obtuvo la sustancia SPH4, cristales de color amarillo intenso, que arrojó resultados positivos en la prueba de Shinoda y un punto de fusión de $198 \pm 2^\circ\text{C}$. Se realizó una cromatografía en capa fina en tres sistemas diferentes de elución CHCl_3 , Tol (tolueno)- CHCl_3 2:8 y Tol- CHCl_3 3:7, de lo cual se observó una sola mancha y se obtuvo como resultado valores de Rf de 0.76, 0.61 y 0.57 respectivamente.

A la sustancia aislada se le tomaron espectros de UV, utilizando diferentes reactivos de desplazamiento acorde con el protocolo para compuestos de tipo flavonoide (Mabry *et al.* 1970). El espectro obtenido muestra bandas características para

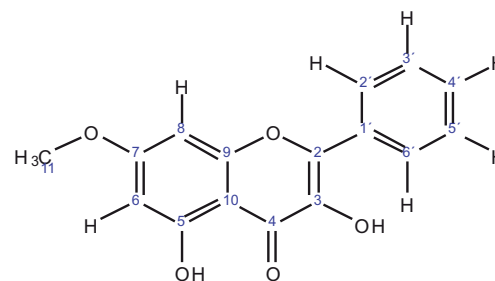


Figura 4. Estructura para SPH4 y SPF4 aislada de las hojas y las flores de la *Smallanthus pyramidalis*

compuestos de tipo flavonol. Para complementar e identificar completamente la estructura, se realizó un análisis de RMN, de lo cual se obtuvieron los espectros de ^1H -RMN y ^{13}C -RMN (Tabla 1). Con todos los datos obtenidos, se identificó la estructura del compuesto 3,5 dihidroxi-7, metoxi-flavona (Izalpinina; Figura 4).

FLORES

Fracción etérea

Esta fracción se concentró a presión reducida, a fin de disminuir el volumen del solvente; luego de este proceso se observó un sólido blanco de aspecto ceroso, que fue separado de la parte líquida de la fracción. Al realizar CCD (sílica gel 60G F₂₅₄, heptano) del sólido, se observaron tres manchas, al ser reveladas con Iodo y Liebermann-Burchard y al ser expuestas a luz ultravioleta de 254 nm, presentó una

Tabla 1. Datos espectrales de ^1H -RMN (400 MHz) y ^{13}C -RMN (100 MHz) en CDCl_3 para la sustancia SPH4

Señal	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)	Intensidad, Multiplicidad, J (Hz)	Posible asignación
C1	11.664	----	1H,s	Grupo OH en C-5
C2	≈ 8.208	127.634	2H,d, $J=333\text{Hz}$	Hidrógeno unido al anillo aromático B, C-2'; C-6'.
C3	7.547 – 7.443	128.638 – 130.293	3H,m	Hidrógenos unidos al anillo aromático B, C-3'; C-4'; C-5'.
C4	6.692	----	1H,s	Grupo OH en C-3
C5	≈ 6.508	92.272	1H,d, $J=1.958\text{Hz}$	Hidrógeno unido al anillo A, C-8.
C6	≈ 6.387	98.054	1H,d, $J=1.990\text{Hz}$	Hidrógeno unido al anillo A, C-6.
C11	3.892	55.895	3H,s	Metoxilo (-O-CH ₃), En anillo A, C- 7.

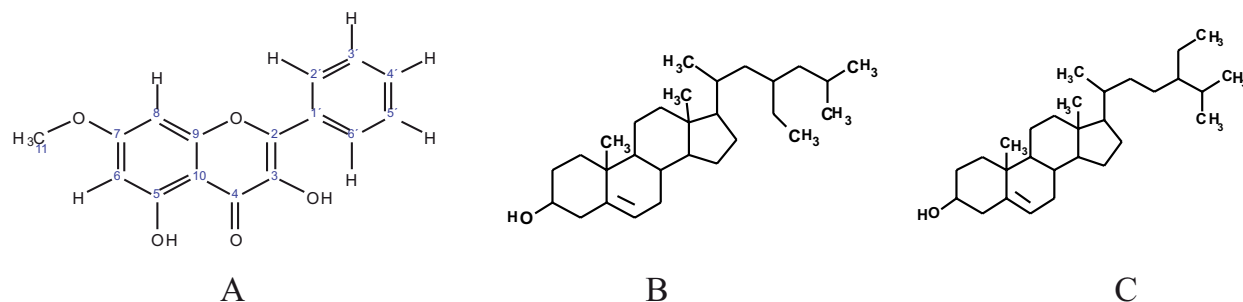


Figura 5. Compuestos de SPF2 presentes en las flores de *Smallanthus pyramidalis*. A. estigmastan- 5, 22 dien-3-ol. B. 23-etilcolest- 5-en – 3.beta-ol C. gamma sitosterol

fluorescencia azul; esta mezcla presento un punto de fusión 36-45°C y se denominó como SPF1. Posteriormente, a esta mezcla se le realizó un análisis de cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (CG-EM), identificando la mezcla de alcanos: Tricosano, Pentacosano, Tetracosano, Hexacosano, Heptacosano, Nonacosano y Hentriacontano, con porcentajes de coincidencia con la biblioteca interna del equipo superiores a 89%.

A la parte líquida de esta fracción se le dejó evaporar el solvente a totalidad y luego se sometió a una cromatografía líquida al vacío, utilizando como fase móvil diclorometano, de lo cual se obtuvieron cuatro subfracciones, de las cuales se analizaron las subfracciones 4 y 3. A la subfracción 4 se le realizó una recrystalización con éter de petróleo, lo que permitió separar unos cristales de color blanco, con forma de agujas solubles en cloroformo, una CCD (sílica gel 60G F₂₅₄, CHCl₃) revelada con H₂SO₄ muestra una mancha de color rojo, con un

Rf 0.32. A esta sustancia se le llamó SPF2, a la que se le realizó un análisis de CG-EM, obteniendo dos señales. Por comparación de tiempo de retención, se puede inferir la presencia de tres señales, de las cuales dos se encuentran solapadas correspondientes a los tiempos de retención 19.572 min y 19.573 min. En esta mezcla se identificó la presencia de los esteroides: γ -sitosterol, Estigmastan 5,22-dien-3-ol y 23-etilcolest-5-en-3beta-ol, con un porcentaje de coincidencia de 99%, estas estructuras se muestran en la figura 5.

A la subfracción 3, se le realizó una cromatografía en capa delgada preparativa (CCDP), aislando la sustancia SPF3, cristales amarillos claros en forma de gránulos, pruebas químicas positivas para esteroides (Liebermann-Burchard), punto de fusión de 148±2°C; CCD (sílica gel 60G F₂₅₄, CHCl₃: MeOH 19:1), Rf 0,5. Se realizó el experimento ¹H-RMN. El espectro obtenido es característico para compuestos de tipo esteroideal (Domínguez 1973).

Tabla 2. Relación y comparación de las señales ¹H-RMN para la sustancia SPF3

Nº C	Tipo de C	¹ H-RMN (ppm)	Multiplicidad	Integración	Cuca (Cuca <i>et al.</i> 2004)	Guzman (Guzmán & Torrenegra 2007)
3	CH	3.5	M	1	3.53	3.52 m
5	C	-	-	-	-	-
6	CH	5.24	T	1	4.8 d	5.35 s
10	C	-	-	-	-	-
13	C	-	-	-	-	-
18	CH ₃	0.78	S	3	0.63 s	0.69 s
19	CH ₃	1.24	S	3	0.93 s	-
22	CH	4.75	D	2	-	5.00 dd
23	CH	-	-	-	-	-

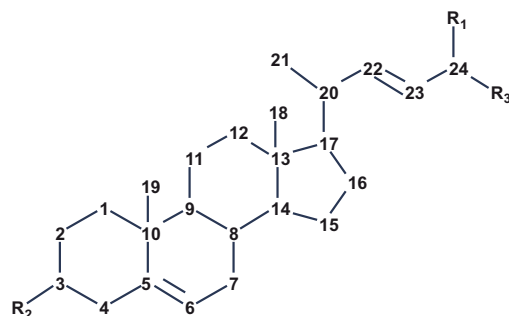


Figura 6. Estructura propuesta para SPF3, aislada de las flores de *Smallanthus pyramidalis*

Luego del análisis del espectro se obtuvieron las señales características que se relacionaron y se compararon con artículos publicados anteriormente, en los que se hizo la elucidación estructural de compuestos de tipo esteroide (Cuca *et al.* 2004; Guzmán & Torrenegra 2007), los cuales se observan en la tabla 2 y permiten proponer la estructura presente en la figura 6.

A fin de corroborar y ampliar la información de la estructura del compuesto, se analizó el experimento COSY, en el que se corroboró la presencia de dos dobles enlaces de tipo vinílico, uno en el cuerpo del esteroide y otro en la cadena lateral. Debido al análisis realizado a los espectros unidimensionales y bidimensionales de ^1H -RMN y ^1H - ^1H , se decidió realizar un análisis complementario para corroborar totalmente la estructura elucidada y despejar las dudas referentes al radical de C-3 y a la estructura general de la cadena lateral de C-17 y su clasificación en la serie del ergostano o estigmastano; para esto, se utilizó CG-EM.

En este cromatograma se presentaron cuatro señales, lo cual demuestra que se trata de una mezcla de esteroides, que solo se diferencian en la cadena alifática lateral del C-17 y uno de ellos con insaturación en C-7. Se muestra mayor tiempo de retención, el segundo pico correspondiente al compuesto estigmasterol, con un porcentaje de coincidencia del 99% comparado con la biblioteca interna del equipo. Luego del análisis de ^1H -RMN, COSY y CG-EM de la sustancia SPF3, se determinó que esta es una mezcla de esteroides con mayor proporción de estigmasterol (figura 6), ve-

rificando por CG-EM la estructura de la cadena lateral y el radical el C-3.

Fracción en diclorometano

De la fracción diclorometano obtenida del Soxhlet del extracto total, se realizó una cromatografía en columna (sílica gel 60, EdP-EtOH). Se seleccionó la fracción diclorometano: acetato de etilo 6:4, que se denominó SPF4, cristales amarillos en forma de agujas, la cuales dan prueba positiva para Shinoda, CCD (sílica gel 60G F₂₅₄, EdP-CHCl₃ 1:9), Rf de 0.71. La sustancia aislada presentó características físicas y químicas similares al compuesto 3,5 dihidroxi-7, metoxiflavona (Izalpinina) encontrado en las hojas de esta misma especie vegetal. Para corroborar si se trataba del mismo compuesto, se sometió a un experimento de ^1H -RMN. En la tabla 3, se resumen la relación de los picos característicos que se presentaron en el espectro y su comparación con el compuesto Izalpinina (SPF4), lo cual demuestra que este compuesto se encuentra tanto en hojas como en flores; la estructura de este se encuentra en la figura 4. El porcentaje de rendimiento encontrado para los metabolitos aislados de las hojas y flores de *S. pyramidalis*, se observa en la tabla 4.

DISCUSIÓN

De los compuestos aislados tipo alceno, se puede destacar su posible aplicación como marcadores

Tabla 3. Señales características de la sustancia SPF4, Izalpinina

Nº C	Tipo de C	^1H -RMN (ppm)	Multiplificación	Integración
5	CH	3.9	s	1
2'y 6'	CH	8.21	dd	2
3', 4'y 5'	CH	7.47-7.55	m	3
OH C-3	---	6.71	s	1
OH C-5	---	11.68	s	1
11	CH ₃	3.9	s	3

Tabla 4. Rendimiento de los metabolitos aislados de hojas y flores de *Smallanthus pyramidalis*

Parte de la planta	Extracto total etanólico (g)	Metabolito aislado		Porcentaje de rendimiento
		Nombre	(g)	
Hojas	74.68	3,5-dihidroxi-7-metoxiflavona	0.024	0.032%
		Estigmasterol	0.013	0.015%
Flores	82.06	3,5-dihidroxi-7-metoxiflavona	0.003	0.003%

quimiotaxonómicos de diferentes especies vegetales (Isaza *et al.* 2007), ya que permiten reforzar algunas decisiones taxonómicas y añadir información química a las características macro y micro morfológicas de los vegetales (Domínguez 1973). De igual forma, se presume que los esteroides en las plantas actúan como intermediarios en la biosíntesis de la celulosa y numerosos metabolitos secundarios, regulan la fluidez y la permeabilidad de las bicapas de fosfolípidos que se presentan como componente estructural de las membranas vegetales (Oliver *et al.* 2005). Los esteroides γ -sitosterol, Estigmastan 5,22-dien-3-ol, 23-etilcolest-5-en-3-beta-ol, Campesterol y 7- ergosterol, encontrados en esta investigación podrían contribuir con las propiedades que se le han venido atribuyendo a la especie *S. pyramidalis*. Estos metabolitos han sido reportados para este género (Herrera *et al.* 2000), pero son nuevos para la especie.

Teniendo en cuenta los reportes bibliográficos, se puede identificar que la presencia de los terpenos es característica para el género y, además, ellos presentan funciones ecológicas de interacción antagónica o mutualista entre los organismos presentes en los humedales: la especie vegetal *S. pyramidalis* puede utilizar este tipo de compuestos como repelente o atrayente a otros organismos (Gershenzon & Dudareva 2007).

El flavonoide encontrado (Izalpinina) podría ser utilizado por esta especie vegetal como atrayente polinizador en sus flores y pigmento protector solar del aparato fotosintético de las hojas contra los rayos (Cohen *et al.* 2001). Además, se ha encontrado que este compuesto posee una buena actividad de

inhibición de 17- β HSD tipo 1 (Brozic *et al.* 2009), lo cual muestra que la Izalpinina no solo presenta beneficios a la especie vegetal, sino que es promisoría para su uso como fármaco en el tratamiento de enfermedades estrógeno-dependientes.

De acuerdo con los metabolitos encontrados, *S. pyramidalis* es importante en la recuperación y mantenimiento de los humedales, ya que entre sus varias funciones presenta la regulación de agua en el suelo, barrera contra vientos y apoyo de sombra para especies de crecimiento lento (CAR 2009). Adicionalmente por las características ambientales de estos sitios, se comporta como una fuente de metabolitos secundarios de importancia en el equilibrio ambiental, ya que dichos compuestos son agentes atrayentes de polinizadores, agentes repelentes, entre otros.

CONCLUSIONES

De la fracción etérea de flores fue posible identificar por análisis CG-EM, los alcanos Tricosano, Pentacosano, Tetracosano, Hexacosano, Heptacosano, Nonacosano y Hentriacontano, con porcentajes de coincidencia superiores al 90%, los cuales pueden ser utilizados como clasificadores quimiotaxonómicos de *S. pyramidalis*. Los esteroides: Gama sitosterol, Estigmastan 5,22-dien-3-ol, 23-etilcolest-5-en-3beta-ol, Campesterol y 7- ergosterol, con porcentajes de coincidencia superiores al 97% y los sesquiterpenos Isolongifoleno, 7, 11 – Epoxigermacrona y 2-(1,1-dimetiletil)-6-metil-1,3-Dioxan-4-ona, con porcentajes de coincidencia superiores al 72%, según biblioteca interna del equipo, son compuestos componentes de

membranas celulares y precursores de la síntesis hormonal.

De la fracción de diclorometano de hojas se identificó la presencia de los compuestos 7-terbutil-4-metil-5-nitrobenzoxasola, ácido dehidro-cohumulínico, 4-dioxo-3-metil-6-isopropilpirimido [2,3-b]-[1,4] pirazina, 12,17-epoxi-13, 14, 15, 16,-tetranorlabd-8(17) eno, α , α , γ , γ , γ , γ , -hexametil-1,4-bencenodipropanol, hexahidrodibenzo [ef, kl] heptaleno y 3-etil-4,4-dimetil-2-(2-metilpropenil) ciclohexen-2-ona, por medio de CG-EM con porcentajes de coincidencia superiores al 72%.

De la maceración de diclorometano en las hojas de *S. pyramidalis* se lograron obtener los terpenos, 2,3,4-tertahidro-1,6 dimetil-4-(1-metiletil)-(1s-cis)-naftaleno, Alfa-muroleno y Delta-Cadineno, todos ellos con porcentajes de coincidencia superiores al 95%. Los compuestos de tipo terpenoide presentan diversas funciones ecológicas de regulación en los humedales.

Por medio de la caracterización de sus propiedades físicas, químicas y el empleo de las técnicas espectrométricas como EM y espectroscópicas como UV, ^1H -RMN uni y bidimensional, ^{13}C -RMN DEPT 135°, se determinó que el compuesto aislado SPH4 y SPF4 como 3,5 dihidroxi 7- metoxiflavona (*Izalpinina*), compuesto común en hojas y flores de esta especie vegetal. Es importante resaltar que los compuestos aislados en *S. pyramidalis* pueden llegar a cumplir funciones determinantes en el equilibrio ecológico.

AGRADECIMIENTOS

Al grupo de Investigación en Productos Naturales Vegetales y al Centro de Investigaciones y Desarrollo Científico, pertenecientes a la Universidad Distrital Francisco José de Caldas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acueducto de Bogotá & Conservación Internacional Colombia (ed.). 2003. Los hume-

dales de Bogotá y la Sabana. Tomo 1. Bogotá. 262 p.

Brozic, P., P. Kocbek, M. Sova, J. Kristl, S.Martens, J. Adamski, S. Gobec & T. L. Riznera. 2009. Flavonoids and cinnamic acid derivatives as inhibitors of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1. Molecular and Cellular Endocrinology 301: 229-234.

CAR. 2009. Río Bogotá. Adecuación hidráulica y recuperación ambiental. Anexo 6. Bogotá. 52 p.

Cohen, M., Y.Sakihama & H. Yamasaki. 2001. Roles of plant flavonoids in interactions with microbes: From protection against pathogens to the mediation of mutualism. Recent research developments. Plant Physiology 2: 157-173.

Cuca, L., C. Coy & C. I. Orozco. 2004. Aislamiento y elucidación estructural de algunos metabolitos mayoritarios del extracto etanólico de *Solanum cornifolium*. Sección geminata. Revista Colombiana de Química 33: 7-12.

Domínguez, X. 1973. Métodos de investigación fitoquímica. Limusa. Monterrey. 281 p.

García, H. 1992. Flora medicinal de Colombia. Tomo 3. Tercer mundo. Bogotá. 507 p.

Gershenzon, J. & N. Dudareva. 2007. The function of terpene natural products in the natural world. Nature Chemical Biology 3: 408-414.

Guzmán, A. & R.Torrenegra. 2007. Análisis fitoquímico de la especie colombiana *Chromolaena subscandens* (Hieron.) R.M. King & H. Rob. y determinación de su actividad antimicrobiana. Scientia et Technica 13: 271-273.

Herrera, P., M. L. Prede & F. Cejas. 2000. Evaluación del estado de conservación de la familia Asteraceae en Cuba. Acta Botánica Cubana 141: 1-20.

Isaza, J. H., L. M. Orozco, D. A. Rivera, L. J.Tapias, L. S. Ramírez, L. A. Veloza & L. M.Zuleta. 2007. Perfiles cromatográficos preliminares por GC-MS de algunas especies de plantas melastomatáceas. Scientia et Technica 13: 359-362.

- Mabry, T. J., K. Markham & M. B. Thomas.** 1970. The systematic identification of flavonoids. Springer-Verlag. Berlin-Heidelberg-New York. 354 p.
- Oliver, A. P., C. Picó, M. L. Bonet, P. Oliver, F. S. Vich, A. M. Rodríguez & J. Ribot.** 2005. Libro blanco de los esteroides vegetales. Instituto Flora Para una vida sana. España. 173 p.
- Palacios, N., D. Burtin & M. Leech.** 2004. Biología molecular, una herramienta para la bioprospección del metabolismo secundario de plantas en Colombia. Revista Colombiana de Biotecnología 6: 67-77.
- Sanabria, G. A.** 1983. Análisis Fitoquímico Preliminar. Metodología y aplicación. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Departamento de Farmacia. Bogotá. 113 p.
- Van der Hammen, T., Stiles, F. G., Rosselli, L., Chisacá, M. L., Camargo, G., Guillot, G., Useche, Y., & Rivera, D.** 2008. Protocolo de recuperación y rehabilitación ecológica de humedales en centros urbanos. Bogotá. 296 p.
- Vignale, N. D. & A. Á. Gurni.** 2005. Identificación Micrográfica de las Hojas de *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson (Asteraceae). Acta Farmacéutica Bonaerense 24: 96-98.
- Zuluaga, G.** 1994. El aprendizaje de las plantas: En la senda de un conocimiento olvidado. Etnobotánica medicinal Seguros Bolívar. Bogotá. 148p.